

Rec'd PGT/PTC 15 DEC 2004

10/518018

CT/JP03/15009

#2

日 本 国 特 許 庁  
JAPAN PATENT OFFICE

25.12.03

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日                      2 0 0 3 年    2 月 2 4 日  
Date of Application:

出 願 番 号                      特 願 2 0 0 3 - 0 4 5 5 0 9  
Application Number:  
[ST. 10/C]:                      [ J P 2 0 0 3 - 0 4 5 5 0 9 ]

REC'D 19 FEB 2004

WIPO

PCT

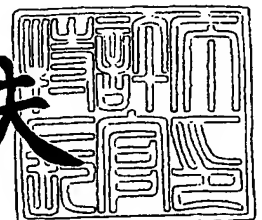
出      願      人                      森永乳業株式会社  
Applicant(s):

PRIORITY DOCUMENT  
SUBMITTED OR TRANSMITTED IN  
COMPLIANCE WITH  
RULE 17.1(a) OR (b)

2 0 0 4 年    2 月    6 日

特許庁長官  
Commissioner,  
Japan Patent Office

今 井 康 夫



BEST AVAILABLE COPY

出証番号    出証特 2 0 0 4 - 3 0 0 7 2 1 7

【書類名】 特許願

【整理番号】 P000011208

【提出日】 平成15年 2月24日

【あて先】 特許庁長官 殿

【国際特許分類】 C12Q 1/28

【発明者】

    【住所又は居所】 富山県富山市安養坊34番16号

    【氏名】 白木 公康

【発明者】

    【住所又は居所】 富山県射水郡小杉町南太閤山八丁目8番1号

    【氏名】 黒川 昌彦

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県座間市東原五丁目1番83号  
森永乳業株式会社 栄養科学研究所内

    【氏名】 田村 吉隆

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県座間市東原五丁目1番83号  
森永乳業株式会社 栄養科学研究所内

    【氏名】 山内 恒治

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県座間市東原五丁目1番83号  
森永乳業株式会社 栄養科学研究所内

    【氏名】 若林 裕之

【発明者】

    【住所又は居所】 神奈川県座間市東原五丁目1番83号  
森永乳業株式会社 栄養科学研究所内

    【氏名】 新 光一郎

## 【特許出願人】

【識別番号】 000006127

【氏名又は名称】 森永乳業株式会社

## 【代理人】

【識別番号】 300019386

【氏名又は名称】 重兼 彰夫

【電話番号】 046(252)3026

## 【手数料の表示】

【予納台帳番号】 064301

【納付金額】 21,000円

## 【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 要約書 1

【包括委任状番号】 0003998

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 インターロイキン-6 産生抑制剤

【特許請求の範囲】

【請求項1】 ラクトパーオキシダーゼを有効成分として含有するインターロイキン-6 産生抑制剤。

【請求項2】 インターロイキン-6 の産生に起因する疾患の予防及び／又は治療に効果を有する請求項1 に記載のインターロイキン-6 産生抑制剤。

【請求項3】 インターロイキン-6 の産生に起因する疾患が、血小板増多症、骨髓腫、キャッスルマン病、心臓粘液腫、糸球体腎炎、慢性関節リウマチ、敗血症、及びインフルエンザウイルス感染症である請求項2 に記載のインターロイキン-6 産生抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、ラクトパーオキシダーゼを有効成分として含有することを特徴とするインターロイキン-6 産生抑制剤である。さらに詳しくは、本発明はインターロイキン-6 の異常産生に起因する疾患の予防及び／又は治療に効果を有するインターロイキン-6 産生抑制剤に関するものである。

【0002】

【従来技術】

炎症反応は種々の侵襲で引き起こされる組織損傷に対する一種の生体防御反応であるが、その特徴として発赤、腫脹、発熱、疼痛などの症状を伴う。炎症反応に関与する生体内活性物質には、ヒスタミン、セロトニン、プロスタグランジンなどの炎症性メディエーターや、白血球をはじめとした種々の細胞が産生するインターロイキン-1、インターロイキン-6、インターロイキン-8、腫瘍壊死因子 (TNF) などのいわゆる炎症性サイトカインが挙げられる (例えば、非特許文献1)。

【0003】

インターロイキン-6 は、184 個のアミノ酸からなる分子量 21~28 kD

a のポリペプチド性のサイトカインである。インターロイキン-6 は、リポポリサッカライド、インターロイキン-1、TNF などの炎症の場でみられる種々の刺激物質によって血管内皮細胞、T リンパ球、B リンパ球、単球、マクロファージなど幅広い種類の細胞から産生される。インターロイキン-6 の生物学的作用としては、急性期炎症性タンパクの合成促進、B 細胞からの抗体産生誘導、T リンパ球の活性化などの重要な作用が報告されている。その一方で、インターロイキン-6 の産生異常は種々の免疫異常症、炎症性疾患、リンパ系腫瘍の発症と深く関係していることが示唆されている（例えば、非特許文献 2）。

#### 【0004】

これに対し、インターロイキン-6 の作用を阻害するインターロイキン-6 抗体や、インターロイキン-6 レセプター抗体は、慢性関節リュウマチなどの自己免疫疾患、乾癬、心房内粘液腫、メサングウム増殖性腎炎、キャッスルマン症候群、AIDS、多発性骨髄腫など、多様な炎症性疾患に対する有効性が期待されており（例えば、非特許文献 1）、すでにインターロイキン-6 レセプターに対する抗体を有効成分とするインターロイキン-6 の産生に起因する疾患の治療剤（例えば、特許文献 1）が開示されている。

#### 【0005】

また、炎症における過剰な反応を抑制することに重点をおいた対症療法的な薬物として、抗炎症薬が開発されている。抗炎症薬はステロイド系抗炎症薬と非ステロイド系抗炎症薬とに大別され、前者は糖質コルチコイドであり、後者はアスピリンなどのサリチル酸誘導体、フェニルブタゾン、インドメタシン、メフェナム酸、フルフェナムなどである（例えば、非特許文献 3）。

#### 【0006】

様々な実験的炎症モデル動物において、抗炎症薬によるインターロイキン-6 産生抑制作用が明らかにされている。例えば、カラゲナン投与で胸膜炎を誘導したラットに抗炎症薬のインドメタシンを投与すると、胸膜炎の炎症が有意に抑制され、腹腔滲出液中のインターロイキン-6 が抑制されることが明らかにされている（例えば、非特許文献 4）。

#### 【0007】

しかしながら、抗炎症薬は優れた薬効を示す反面で、連用により、過敏症状、感染症、消化性潰瘍、精神症状、糖尿病誘発など、種々の副作用が発現することが知られており、臨床上の大きな問題となっていた。このような状況から、安全で副作用が少なく、日常的に長期服用が可能なインターロイキン-6産生抑制剤の開発が望まれていた。

#### 【0008】

ラクトパーオキシダーゼは、哺乳類の乳汁、唾液、涙液、気道粘液等の分泌液に含有される酸化還元酵素であり（例えば、非特許文献5）、工業的には牛乳から大量スケールで精製される（例えば、特許文献2）。

#### 【0009】

ラクトパーオキシダーゼには、抗菌性、抗ウイルス活性、抗酸化活性、抗癌作用、免疫調節作用等の多様な生物機能が報告されている（例えば、非特許文献6～11）。また、ヘリコバクタピロリ感染の治療用医薬を製造するためのラクトペルオキシダーゼ、ペルオキシドドナーおよびチオシアネートの使用（例えば、特許文献3）、養殖水生動物の配合飼料に添加される病原菌感染予防及び治療剤（例えば、特許文献4）、老化防止剤（例えば、特許文献5）、肝機能改善剤（例えば、特許文献6）、ペルオキシダーゼの予防および治療への応用（例えば、特許文献7）、角膜障害治療剤（例えば、特許文献8）等に関する技術が開示されている。更に、本出願人により、すでにパーオキシダーゼ、チオシアン酸、及び過酸化水素を有効成分とするウレアーゼ不活性化組成物（特許文献9）を開示している。しかしながら、現在に至るまで炎症性サイトカインの一種であるインターロイキン-6産生に及ぼすラクトパーオキシダーゼの効果に関する既存の技術は一切報告されていなかった。

#### 【0010】

##### 【特許文献1】

特開平8-169846号公報

##### 【特許文献2】

特開平5-41981号公報

##### 【特許文献3】

特表 2000-509367 号公報

【特許文献 4】

特許第 3103615 号公報

【特許文献 5】

特許第 3103167 号公報

【特許文献 6】

特開 2001-226289 号公報

【特許文献 7】

特表平 6-501453 号公報

【特許文献 8】

特許第 2840795 号公報

【特許文献 9】

特開 2002-238554 号公報

【0011】

【非特許文献 1】

狩野庄吾、宮坂信之、湊長博編、「臨床免疫学」、朝倉書店、1997 年、p. 73-77

【非特許文献 2】

松村正實編、「分子細胞生物学辞典」、東京化学同人、1997 年、p. 90

【非特許文献 3】

赤木満州男、野上壽、高木敬次郎、堀井善一、久保輝一郎編、「薬学大辞典」、日本工業技術連盟、1982 年、p. 180

【非特許文献 4】

「薬学雑誌」、第 120 巻、2000 年、p. 455-462

【非特許文献 5】

アメリカン・ジャーナル・オブ・レスピラトリー・アンド・クリティカル・ケア・メディスン (American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine.)、アメリカ、第 166 巻、2002 年、p. S57-S61

## 【非特許文献6】

ジャーナル・オブ・ニュートリショナル・バイオケミストリー (Journal of Nutritional Biochemistry)、アメリカ、第11巻、2000年、p. 94-102

## 【非特許文献7】

ライフ・サイエンシーズ (Life Sciences)、アメリカ、第43巻、1988年、p. 739-745

## 【非特許文献8】

ライフ・サイエンシーズ (Life Sciences)、アメリカ、第47巻、1990年、p. 703-709

## 【非特許文献9】

ジャーナル・オブ・デイリー・リサーチ (Journal of Dairy Research)、イギリス、第63巻、1996年、p. 257-267

## 【非特許文献10】

ジャーナル・オブ・デイリー・リサーチ (Journal of Dairy Research)、イギリス、第64巻、1997年、p. 281-288

## 【非特許文献11】

ベテリナリー・イミュノロジー・アンド・イミュノパソロジー (Veterinary Immunology and Immunopathology)、オランダ、第56巻、1997年、p. 85-96

## 【0012】

## 【発明が解決しようとする課題】

本発明者等は、生体において炎症時に産生される炎症性サイトカインの一種であるインターロイキン-6の産生を抑制する作用を有する成分について、タンパク質等の食品素材を中心に鋭意探索を行なっていたところ、乳タンパク質であるラクトパーオキシダーゼがインターロイキン-6産生抑制作用を有すること初めて見出した。その結果、ラクトパーオキシダーゼの使用により、インターロイキン-6の産生によって起因する種々の感染症や炎症性疾患の症状を緩和させることが可能となり、本発明を完成するに至った。



## 【0013】

本発明は、安全性に優れ、安価で大量に生産することが可能であり、インターロイキン-6の産生を効果的に抑制する作用を有するインターロイキン-6産生抑制剤であって、インターロイキン-6の産生に起因する疾患の予防及び／又は治療に有効な薬剤を提供するものである。

## 【0014】

## 【課題を解決するための手段】

前記課題を解決する本発明は、ラクトパーオキシダーゼを有効成分として含有するインターロイキン-6産生抑制剤であって、以下の(1)及び(2)を好ましい態様としている。

(1) インターロイキン-6産生抑制剤が、インターロイキン-6の産生に起因する疾患の予防及び／又は治療に効果を有すること。

(2) 該インターロイキン-6の産生に起因する疾患が血小板増多症、骨髄腫、キャッスルマン病、心臓粘液腫、糸球体腎炎、慢性関節リウマチ、敗血症、及びインフルエンザウイルス感染症であること。

## 【0015】

## 【発明の実施の形態】

次に、本発明の好ましい実施態様について詳細に説明する。ただし、本発明は以下の好ましい実施態様に限定されず、本発明の範囲内で自由に変更することができるものである。尚、本明細書において百分率は特に断りのない限り質量による表示である。

## 【0016】

本発明に使用するラクトパーオキシダーゼは、以下の製造法、例えば生菌含有液状組成物（特開平5-41981公報）に開示された方法のように未加熱のホエーまたは脱脂乳から、常法（例えば、イオンクロマトグラフィー等）に従って工業的に製造することが好ましく、更に、市販の天然物由来のラクトパーオキシダーゼ（例えばバイオポール社製等）、又は組換え型ラクトパーオキシダーゼ〔例えば、シンらの方法 [バイオケミカル・アンド・バイオフィジカル・リサーチ・コミュニケーションズ (Biochemical and Biophysical Research Communica

tions)、第271巻、2000年、p. 831-836]によって発現・精製された組換え型ラクトパーオキシダーゼ、又は市販の組換え型ラクトパーオキシダーゼ]を使用することも可能である。

#### 【0017】

ラクトパーオキシダーゼは、インターロイキン-6の産生を抑制する作用を有しているので、インターロイキン-6産生抑制剤（以下、「本発明の抑制剤」という場合がある。）の有効成分として使用することができる。ここで、「有効成分」とは、インターロイキン-6の産生を抑制する作用を有する成分を意味し、ラクトパーオキシダーゼが本発明の抑制剤の主成分である必要はなく、また、本発明の抑制剤にはラクトパーオキシダーゼ以外にインターロイキン-6の産生を抑制する作用を有する成分が含まれていてもよい。

#### 【0018】

本発明において、インターロイキン-6産生抑制剤とは、生体内において産生される炎症性サイトカインの一種であるインターロイキン-6の産生を抑制する作用を有する医薬組成物、およびインターロイキン-6の産生抑制を介して血小板増多症、骨髓腫、キャッスルマン病、心臓粘液腫、糸球体腎炎、慢性関節リウマチ、敗血症、及びインフルエンザウイルス感染症などの各種の感染症や炎症性疾患の症状緩和作用を有する医薬組成物を包含するが、インターロイキン-6の異常産生に起因する疾患に対する予防及び／又は治療の使用に限定されるものではない。本発明のインターロイキン-6産生抑制剤は、その有効成分が乳タンパク質等の食品素材に含まれるものであるので、ヒトに対する安全性が高く、飲食品に含有させた組成物として日常的に経口摂取することによってインターロイキン-6の産生に起因する疾患に対する予防及び／又は治療に効果が発揮される特徴を併せ持つ。

#### 【0019】

本発明のインターロイキン-6産生抑制剤の形態は特に限定されるものではなく、本発明の形態としては、例えば、医薬組成物が挙げられる。本発明のインターロイキン-6産生抑制剤を摂取する形態としては、調製粉乳、経腸栄養食、機能性食品等の各種飲食品組成物に配合して摂取する形態が挙げられる。

## 【0020】

本発明の抑制剤は、ラクトパーオキシダーゼそれ自体であってもよいし、ラクトパーオキシダーゼ以外の成分を含有していてもよい。ラクトパーオキシダーゼ以外の成分は、摂取の形態に応じて適宜選択できる。例えば、ラクトパーオキシダーゼ粉末やラクトパーオキシダーゼ水溶液（シロップ等）等を本発明のインターロイキン-6 産生抑制剤として配合して各種飲食品を調製してもよい。

## 【0021】

医薬組成物は、例えば、ラクトパーオキシダーゼを、薬学的に許容され得る賦形剤その他任意の添加剤を用いて製剤化することにより製造でき、製剤化したラクトパーオキシダーゼは、インターロイキン-6 の産生に起因する疾患に対する予防及び／又は治療剤として使用できる。製剤化する場合、製剤中のラクトパーオキシダーゼの含有量は、通常 0.001～20 質量%、好ましくは 0.1～15 質量%である。製剤化にあたっては、賦形剤、結合剤、崩壊剤、滑沢剤、安定剤、矯味矯臭剤、希釈剤、注射剤用溶剤等の添加剤を使用できる。

## 【0022】

賦形剤としては、例えば、乳糖、白糖、ブドウ糖、マンニット、ソルビット等の糖誘導体；トウモロコシデンプン、馬鈴薯デンプン、 $\alpha$ -デンプン、デキストリン、カルボキシメチルデンプン等のデンプン誘導体；結晶セルロース、ヒドロキシプロピルセルロース、ヒドロキシプロピルメチルセルロース、カルボキシメチルセルロース、カルボキシメチルセルロースカルシウム等のセルロース誘導体；アラビアゴム；デキストラン；プルラン；軽質無水珪酸、合成珪酸アルミニウム、メタ珪酸アルミン酸マグネシウム等の珪酸塩誘導体；リン酸カルシウム等のリン酸塩誘導体；炭酸カルシウム等の炭酸塩誘導体；硫酸カルシウム等の硫酸塩誘導体等が挙げられ、結合剤としては、例えば、上記賦形剤の他、ゼラチン；ポリビニルピロリドン；マクロゴール等が挙げられ、崩壊剤としては、例えば、上記賦形剤の他、クロスカルメロースナトリウム、カルボキシメチルスターチナトリウム、架橋ポリビニルピロリドン等の化学修飾されたデンプン又はセルロース誘導体等が挙げられ、滑沢剤としては、例えば、タルク；ステアリン酸；ステアリン酸カルシウム、ステアリン酸マグネシウム等のステアリン酸金属塩；コロイ

ドシリカ；ビーガム、ゲイロウ等のワックス類；硼酸；グリコール；フマル酸、アジピン酸等のカルボン酸類；安息香酸ナトリウム等のカルボン酸ナトリウム塩；硫酸ナトリウム等の硫酸類塩；ロイシン；ラウリル硫酸ナトリウム、ラウリル硫酸マグネシウム等のラウリル硫酸塩；無水珪酸、珪酸水和物等の珪酸類；デンプン誘導体等が挙げられ、安定剤としては、例えば、メチルパラベン、プロピルパラベン等のパラオキシ安息香酸エステル類；クロロブタノール、ベンジルアルコール、フェニルエチルアルコール等のアルコール類；塩化ベンザルコニウム；無水酢酸；ソルビン酸等が挙げられ、矯味矯臭剤としては、例えば、甘味料、酸味料、香料等が挙げられ、注射剤用溶剤としては、例えば、水、エタノール、グリセリン等が挙げられる。

#### 【0023】

医薬組成物の投与経路としては、例えば、経口投与、経腸投与等の非経口投与が挙げられ、医薬組成物の投与剤形としては、例えば、噴霧剤、カプセル剤、錠剤、顆粒剤、シロップ剤、乳剤、座剤、注射剤、軟膏、テープ剤等が挙げられる。また、医薬組成物は、飲食品、飼料等に配合して投与することもできる。投与投与量及び投与回数は、目的とする作用効果、投与方法、治療期間、年齢、体重等により異なるが、投与量は、成人1日当たり通常10mg～10gの範囲から適宜選択でき、投与回数は、1日1回から数回の範囲から適宜選択できる。

#### 【0024】

飲食品組成物に配合して摂取する形態としては、例えば、ラクトパーオキシダーゼ粉末やラクトパーオキシダーゼ水溶液（シロップ等）等を本発明のインターロイキン-6産生抑制剤として配合した清涼飲料、乳飲料等又はこれらの飲料の濃縮原液及び調整用粉末；加工乳、発酵乳等の乳製品；経腸栄養食；機能性食品等が挙げられる。

#### 【0025】

飲食品組成物の形状としては、タブレット状のサプリメントを例示することができる。これによって、一日当りの食事量及び摂取カロリーを他の食品の摂取量を加味した上でコントロールする必要が無く、また、有効成分の摂取量を正確に把握できる。

## 【0026】

本発明において、ラクトパーオキシダーゼによるインターロイキン-6 産生抑制作用を評価するために、ヒトおよび哺乳動物において、インフルエンザウイルスの感染によってインターロイキン-6 の産生が誘導されるという報告〔ジャーナル・オブ・メディカル・バイロロジー (Journal of Medical Virology)、アメリカ、第64巻、2001年、p. 262-268、サーキュレーション (Circulation)、アメリカ、第103巻、2001年、p. 2283-2288〕に基づき、インフルエンザ感染モデルマウスによるインターロイキン-6 の産生誘導に対するラクトパーオキシダーゼの効果〔インターロイキン-6 産生抑制作用、炎症細胞数抑制作用、肺コンソリデーション (肺炎症の重症度)〕として検討した。詳細は、後記する試験例の方法に従った。

## 【0027】

次に試験例を示して本発明を詳細に説明する。

## [試験例1]

本試験は、ウイルス感染に伴う炎症によって産生されたインターロイキン-6、炎症細胞数、及び肺コンソリデーションの重症度に対するラクトパーオキシダーゼによる効果を調べるために行った。

## 【0028】

## (1) 試料の調製

ラクトパーオキシダーゼ (バイオポール社製) を、12.5質量%の濃度になるように精製水に溶解して試験試料を調製した。対照試料には精製水を使用した。

## 【0029】

## (2) 試験方法

## a) 試料の投与

7週齢のBALB/C雌性マウス (日本エス・エル・シー社から購入) 合計12匹を、糞食防止ネットを設置したケージに入れ、標準固形飼料 (日本クレア社製) と飲水で一週間馴化飼育した。次に、前記マウスを6匹ずつ2群に分け、その1群に対照試料0.5mlをゾンデで経口投与して対照群とした。残りの1群

には試験試料 0.5 ml をゾンデで経口投与して試験群とした。これらの経口投与は、ウイルス感染の 1 日前から開始し、投与開始から 7 日間、一日一回ずつ連日投与した。ウイルス感染日（試料投与開始後 2 日目）に、すべてのマウスに対して、インフルエンザウイルス A/PR/8/34 (H1N1) 株 660 PFU (PFU: プラーク形成単位) を含むリン酸緩衝液 10  $\mu$  l を麻酔下で経鼻的に接種した。感染 6 日後（試料投与終了日）にマウスを解剖し、以下に示す各種測定サンプルを回収した。

### 【0030】

#### b) 測定サンプルの回収

試料投与終了後のマウスを、麻酔下で眼窩静脈から採血し、血清サンプルを回収した。また、解剖気道に注射針を差し込み、1 ml の血清無添加イーグル MEM 培地（日水製薬社製）を注射器で注入した後、同じ注射器内に液を回収した。同様の注入と回収をさらに 2 回繰り返し、計 3 回分の気管支肺胞洗浄液を回収した。回収した気管支肺胞洗浄液を 1000 回転で遠心し、細胞画分と上清に分離した。細胞画分は炎症細胞サンプルとし、上清は気管支肺胞洗浄液上清サンプルとした。また、解剖したマウスから肺を回収し、肺コンソリデーションサンプルとした。

### 【0031】

#### c) インターロイキン-6 濃度の測定

前記血清サンプル及び気管支肺胞洗浄液サンプル中のインターロイキン-6 の濃度を ELISA 法により測定し、一群 6 匹の測定値を平均化した。

### 【0032】

#### d) 炎症細胞数の測定

前記炎症細胞サンプルについて細胞数測定装置（日本光電社製）を使用して炎症細胞数を測定し、一群 6 匹の測定値を平均化した。

### 【0033】

#### e) 肺コンソリデーションの重症度のスコア化

ウイルス感染による炎症の指標であるコンソリデーションの重症度は、ギンズバーグらの方法 [ジャーナル・オブ・エクスペリメンタル・メディシン (Journ

l of Experimental Medicine)、アメリカ、第95巻、1952年、第135～145ページ]に従って、0(コンソリデーションなし)から10(重篤なコンソリデーション)にスコア化し、一群6匹の測定値を平均化した。

#### 【0034】

##### (3) 試験結果

本試験の結果を表1、表2、表3に示す。表1は、血清サンプル及び気管支肺胞洗浄液上清サンプル中のインターロイキン-6濃度の測定結果を示す。表2は、気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞数の測定結果を示す。表3は肺コンソリデーションスコアを示す。

#### 【0035】

その結果、表1から明らかなとおり、ウイルス感染マウスにラクトパーオキシダーゼを投与することにより、血清サンプル及び気管支肺胞洗浄液上清サンプル中のインターロイキン-6濃度は有意に減少することが判明した。

#### 【0036】

また、表2から明らかなとおり、気管支肺胞洗浄液中の炎症細胞数はラクトパーオキシダーゼを投与することにより減少したことから、ラクトパーオキシダーゼによる炎症性細胞の滲出を抑制する効果も確認された。

#### 【0037】

さらに、表3から明らかなとおり、肺コンソリデーションスコアは対照群では5.0であったのに対し、ラクトパーオキシダーゼを投与した試験群では1.8に低下し、ラクトパーオキシダーゼによる肺の炎症抑制効果も確認された。

#### 【0038】

従って、ラクトパーオキシダーゼは、in vivoでインターロイキン-6の産生を効果的に抑制する作用を有し、その効果に伴って炎症性細胞の滲出を抑制する作用、及び肺の炎症症状を改善する効果が発揮されることが明らかとなった。

#### 【0039】

尚、気管支肺胞洗浄液の上清中のウイルス量について、MDCK細胞を用いたプラーク法[ジャーナル・オブ・ジェネラル・バイロロジー (Journal of General Virology)、イギリス、第71巻、1990年、p. 2149-2155]

によって測定したところ、対照群と試験群の間でウイルス量の差は認められなかったことから、ラクトパーオキシダーゼは生体内において直接インフルエンザウイルスに対する抗ウイルス効果を持たないことが確認された。

## 【0040】

【表1】

	インターロイキン-6濃度 (pg/ml)	
	血清サンプル	気管支肺胞洗浄液上清サンプル
試験群	59	998
対照群	198	4358

## 【0041】

【表2】

	炎症細胞数 ( $\times 10^5$ 個/ml)
試験群	4.6
対照群	9.6

## 【0042】

【表3】

	肺コンソリデーションスコア
試験群	1.8
対照群	5.0

## 【0043】

次に実施例を示して本発明を更に詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

## 【0044】

## 【実施例】

## 実施例1

次の組成のインターロイキン-6産生抑制効果を有する注射剤を常法により製造した。



ラクトパーオキシダーゼ (バイオポール社製)	2.0 (%)
アクチノマイシンD (シグマ社製)	0.005
塩化ナトリウム (和光純薬社製)	0.9
マンニトール (関東化学社製)	1.0
注射用蒸留水 (大塚製薬社製)	96.095

## 【0045】

## 実施例2

乳糖 (メグレ社製) 600 g、トウモロコシデンプン (日清製粉社製) 400 g、結晶セルロース (和光純薬工業社製) 400 g 及びラクトパーオキシダーゼ 600 g を50メッシュのふるい (ヤマト科学社製) により篩い分けし、厚さ0.5 mm のポリエチレン製の袋にとり、転倒混合し、全自動カプセル充填機 (セセレ・ペディーニ社製。プレス式) を用い、前記粉末をカプセル (日本エランコ社製。1号ゼラチンカプセル、Op. Yellow No.6 Body、空重量75 mg) に内容量275 mg で充填し、インターロイキン-6 産生抑制効果を有するカプセル剤 7000 個を得た。

## 【0046】

## 実施例3

ホエー蛋白酵素分解物 (森永乳業社製) 10.8 kg、デキストリン (昭和産業社製) 36 kg、および少量の水溶性ビタミンとミネラルを水200 kg に溶解し、水相をタンク内に調製した。これとは別に、大豆サラダ油 (太陽油脂社製) 3 kg、パーム油 (太陽油脂社製) 8.5 kg、サフラワー油 (太陽油脂社製) 2.5 kg、レシチン (味の素社製) 0.2 kg、脂肪酸モノグリセリド (花王社製) 0.2 kg、及び少量の脂溶性ビタミンを混合溶解し、油相を調製した。タンク内の水相に油相を添加し、攪拌して混合した後、70℃に加温し、更に、ホモゲナイザーにより14.7 MPa の圧力で均質化した。次いで、90℃で10分間殺菌した後、濃縮し、噴霧乾燥して、中間製品粉末約59 kg を調製した。この中間製品粉末50 kg に、蔗糖 (ホクレン社製) 6.8 kg、アミノ酸混合粉末 (味の素社製) 167 g、およびラクトパーオキシダーゼ (バイオポール社製) 60 g を添加し、均一に混合して、インターロイキン-6 産生抑制剤で

あるラクトパーオキシダーゼを含有する経腸栄養食粉末約 56 kg を製造した。

【0047】

実施例 4

ラクトパーオキシダーゼ（バイオポール社製）150 g、ラクチュロース粉末（森永乳業社製）100 g、マルツデキストリン（松谷化学工業社製）635 g、脱脂粉乳（森永乳業社製）85 g、ステビア甘味料（三栄源エフ・エフ・アイ社製）1 g、ヨーグルト・フレーバー（三栄源エフ・エフ・アイ社製）5 g、グリセリン脂肪酸エステル製剤（理研ビタミン社製）24 g の各粉末を添加して均一に混合し、打錠機（畑鉄鋼所社製）を使用して、錠剤 1 錠当たり 0.5 g とし、12 錠／分の打錠速度、9.8 KPa の圧力で前記混合粉末を連続的に打錠し、インターロイキン-6 産生抑制剤であるラクトパーオキシダーゼを含有するタブレット 1800 錠（約 900 g）を製造した。

【0048】

【発明の効果】

以上詳記したとおり、本発明はラクトパーオキシダーゼを有効成分として含有するインターロイキン-6 産生抑制剤に関するものであり、本発明により奏される効果は次のとおりである。

- (1) インターロイキン-6 の産生を効果的に抑制することが可能である。
- (2) インターロイキン-6 の産生に起因する疾患の予防及び／又は治療に効果を有する。
- (3) 乳等の原料から安価で大量に製造することができる。
- (4) ヒトに対する安全性が高く、日常的に摂取することが可能である。

【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 安全性に優れ、安価で大量に生産することが可能であり、インターロイキン-6の産生を効果的に抑制する作用を有するインターロイキン-6産生抑制剤を提供する。

【解決手段】 ラクトパーオキシダーゼを有効成分として含有することを特徴とするインターロイキン-6産生抑制剤であって、インターロイキン-6の産生に起因する疾患、例えば血小板増多症、骨髓腫、キャッスルマン病、慢性関節リウマチ、及びインフルエンザウイルス感染症等の予防及び／又は治療に効果を有することを望ましい態様とする。

【選択図】 なし

特願 2 0 0 3 - 0 4 5 5 0 9

出 願 人 履 歴 情 報

識別番号

[ 0 0 0 0 0 6 1 2 7 ]

1. 変更年月日

1 9 9 0 年 9 月 6 日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都港区芝5丁目33番1号

氏 名

森永乳業株式会社